

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

# Asociación entre el gen alfa-actinina 3 (*ACTN3*) y el rendimiento en maratón.

---

Trabajo fin de grado. Ciencias de la Actividad  
Física y del Deporte.

**Adrián Hernández Vicente.**

19/06/2014

# ÍNDICE

RESUMEN .....	2
RÉSUMÉ.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
a. La genética como factor del rendimiento .....	4
b. La maratón como deporte de resistencia .....	5
c. Función del <i>ACTN3</i> .....	5
d. Objetivo .....	7
e. Hipótesis.....	7
MÉTODO.....	8
a. Sujetos.....	8
b. Genotipado.....	8
c. Análisis estadísticos.....	9
RESULTADOS .....	10
a. Total de la muestra: .....	10
b. 20% de los mejores tiempos de cada sexo.....	10
c. 10% de los mejores tiempos de cada sexo.....	11
DISCUSIÓN.....	12
CONCLUSIONES .....	16
CONCLUSIONS .....	16
TABLAS .....	17
AGRADECIMIENTOS.....	26
BIBLIOGRAFÍA .....	27

## RESUMEN

**Objetivo:** Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas del *ACTN3* R577X en un grupo de corredores de maratón y controles. **Participantes:** 720 corredores (661 hombres y 59 mujeres) caucásicos con un tiempo medio (Tpo) (mejor marca personal) de 3:23:19±0:31:44 para los hombres y 3:53:49±0:39:39 para las mujeres y 284 controles (217 hombres y 67 mujeres). **Método:** Se obtuvo una muestra de ADN del epitelio bucal a partir del cual se realizó el genotipado para la variante R577X mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). **Resultados:** No hubo diferencias significativas ni en las frecuencias genotípicas ni alélicas cuando se utilizaba el total de la muestra o el 20% de los mejores tiempos de cada sexo. Sin embargo, en el grupo formado por el 10% de los mejores tiempos para los hombres (n=58) se encontraron diferencias significativas respecto al genotipo *ACTN3* 577XX tanto para el modelo codominante (RR vs XX: odd ratio (OR)=2.171, 95% Intervalo de confianza (IC)=0.284-0.976,  $P=0.048$ ; XX vs RX: OR=0.480, IC95%=0.239-0.964,  $P=0.039$ ) como para el recesivo (OR=0.472, IC95%=0.250-0.892,  $P=0.021$ ) así como en los alelos R vs X (OR=1.528, IC95%=1.012-2.307,  $P=0.044$ ). También se obtuvieron diferencias significativas entre grupos (OR=0.526, IC95%=0.284-0.976  $P=0.041$ ) en el modelo recesivo de la muestra cuando solamente incluía el 10% de los sujetos con los mejores tiempos de cada sexo, tomando el sexo como covariable. En el grupo de mujeres no se encontraron diferencias significativas. **Conclusión:** Existe una asociación positiva entre el polimorfismo *ACTN3* R577X y la posibilidad de ser maratoniano (<2:33:20±0:10:44) existiendo una mayor frecuencia del genotipo XX y del alelo X en el grupo de maratonianos respecto al grupo control. Esta asociación solamente fue corroborada en hombres.

## RÉSUMÉ

**Objectif:** comparer les fréquences alléliques et génotypiques de l'*ACTN3* R577X dans un groupe de coureurs de marathon et contrôles. **Participants:** 720 coreurs (661 hommes et 59 femmes) caucasiens avec un temps moyen (Tpo) (record personnel) de 03:23:19±00:31:44 pour les hommes et 03:53:49±00:39:39 pour les femmes, et 284 contrôles (217 hommes et 67 femmes). **Méthode:** Il a été obtenu un échantillon de ADN de l'épithélium buccal à partir de lesquels le génotypage pour le variant R577X a été réalisé en utilisant la réaction en chaîne de la polymérase (PCR). **Résultats:** Il n'y avait pas de différences significatives dans fréquences alléliques ou génotypiques lorsque l'échantillon total, soit 20% des meilleurs temps de chaque sexe ont été utilisés. Cependant, dans le groupe des 10% des meilleurs temps pour les hommes (n=58), ont été observées différences significatives dans le génotype *ACTN3* 577XX pour le modèle codominant (RR vs XX: odd ratio (OR)=2.171, intervalle de confiance 95% (IC)=0.284-0.976,  $P=0.048$ ; XX vs RX: OR=0.480, IC95%=0.239-0.964,  $P=0.039$ ) et pour le récessif (OR=0.472, IC95%=0.250-0.892,  $P=0.021$ ) et dans le allèle X vs R (OR=1.528, IC95%=1.012-2.307,  $P=0.044$ ). Ils ont été également obtenues différences significatives entre les groupes (OR=0.526, IC95%=0.284-0.976,  $P=0.041$ ) dans le modèle récessif lorsque l'échantillon comprend seulement 10% des meilleurs temps de chaque sexe en prenant le sexe comme variable. Dans le groupe des femmes on n'a pas trouvé de différences significatives. **Conclusion:** Il existe une association positive entre le polymorphisme *ACTN3* R577X et la possibilité d'être marathonien ( $<\pm 02:33:20 00:10:44$ ) en existant une fréquence plus élevée du génotype XX et du l'allèle X dans le groupe des marathonniens que chez les contrôles. Cette association a été confirmée que chez les hommes.

## INTRODUCCIÓN

### a. La genética como factor del rendimiento

Según estudios de heredabilidad en familias y en hermanos gemelos, los factores genéticos explican un 66% la heredabilidad del estado de atleta,<sup>1</sup> un 47% el consumo de oxígeno máximo,<sup>2</sup> y en cuanto a la fuerza y la masa muscular un 31-78%.<sup>3</sup> Sin embargo estas excepcionales heredabilidades estimadas han sido criticadas con argumentos como el idéntico ambiente social o el bajo número de sujetos gemelos incluidos en los estudios.<sup>4</sup> Está generalmente aceptado por la comunidad científica que tanto los factores genéticos como los ambientales determinan el rendimiento de un atleta,<sup>5</sup> por este motivo tiene un gran valor conocer la influencia real de las distintas variantes genéticas sobre el rendimiento.

Se considera que existen más de 200 variaciones genéticas potencialmente asociadas con fenotipos de rendimiento físico, y cerca de 20 polimorfismos asociados con los atletas de élite.<sup>6</sup> La contribución de cada variante al fenotipo no es necesariamente similar, además la probabilidad de convertirse en un atleta de élite aumenta conforme crece el número de alelos relacionados con el rendimiento.<sup>7</sup>

Aunque los estudios de asociación genética caso-control han jugado un papel importante para empezar a entender los detalles específicos de la heredabilidad del rendimiento, la gran mayoría de genes candidatos para el rendimiento deportivo descubiertos hasta la actualidad no son los candidatos clave seriamente implicados en los fenotipos de interés. Nos encontramos en el momento en el que la investigación en genética se mueve hacia la era de la genómica, ya que los nuevos avances tecnológicos (GWAS; Estudios de asociación del genoma completo) posibilitan conocer las

interacciones entre los diferentes genes y encontrar otros genes hasta la fecha no estudiados.<sup>4</sup>

### **b. La maratón como deporte de resistencia**

Eynon *et al*<sup>8</sup> afirma que “*Lo ideal es que los estudios proporcionen datos de atletas en los extremos del rendimiento humano Ej. Pruebas de potencia (esprines, saltos, lanzamientos, levantamientos de peso) vs eventos de resistencia (maratón, ciclismo de carretera, triatlones de larga distancia)*”. En nuestro estudio el extremo del rendimiento elegido es el de los deportes de resistencia y más concretamente la maratón como una prueba atlética clásica del extremo del rendimiento humano de resistencia aeróbica. Está bien demostrado que la maratón es una de las pruebas por excelencia de resistencia aeróbica y se conocen bien los factores y los limitantes del rendimiento en dicha prueba. Por ejemplo: Legaz Arrese *et al*<sup>9</sup> afirma al respecto que “*los principales factores fisiológicos que contribuyen al rendimiento en carreras de resistencia son la capacidad aeróbica (VO<sub>2</sub>max) y el coste energético de la carrera: factores adicionales, como la morfología del corazón y las cinéticas de lactato durante el esfuerzo (en hombres), y la adiposidad y los niveles de hierro en sangre (mujeres) parecen limitar el rendimiento a los niveles más altos alcanzados actualmente por la élite.*”

### **c. Función del ACTN3**

Actualmente, los estudios científicos han obtenido resultados consistentes en cuanto al polimorfismo R557X del ACTN3 y su relación con el rendimiento en potencia, dichos hallazgos científicos han sido corroborado por estudios en múltiples cohortes de atletas.<sup>7</sup> Además ya han sido publicados varios meta-análisis sobre la influencia del polimorfismo ACTN3 R577X en deportes de potencia: en el trabajo de Ma *et al*<sup>10</sup> que incluía 18 estudios encontró odd ratio (OR)=1.2 (95% intervalo de confianza (IC)=1.03-

1.42) a favor del genotipo RR. Por su parte Alfred *et al*<sup>11</sup> quien contaba con 12 estudios originales obtuvo un OR de 1.41 (IC95%=1.23-1.62) para el genotipo RR.

Sin embargo, esta fuerte evidencia de relación entre *ACTN3* y el rendimiento en deportes de potencia no se ha visto corroborada hasta la actualidad de forma sólida para los deportes de resistencia. El meta-análisis Ma *et al*,<sup>10</sup> quien incluye 15 estudios originales con deportistas de resistencia no encontró resultados significativos (OR=0.94; IC95%=0.08-1.10;  $P>0.05$ ), al igual que tampoco los encontró Alfred *et al*,<sup>11</sup> el cual incluía 10 estudios (OR=1.02; IC95%=0.84-1.23,  $P>0.05$ ). En cuanto a la importancia de este polimorfismo en el rendimiento, algunos autores<sup>12</sup> se atreven a estimar que supone un 2.5% de la varianza en el rendimiento del atleta.

Las  $\alpha$ -actininas comprenden una familia de proteínas de unión a la actina. Las dos isoformas del músculo esquelético, ( $\alpha$ -actinina-2 y  $\alpha$ -actinina-3) son los componentes principales de la línea Z, donde se unen y anclan los filamentos de actina. La  $\alpha$ -actinina-2 se expresa en todas las fibras musculares (lenta y rápida), mientras que  $\alpha$ -actinina-3 (codificada por el gen *ACTN3*) es más especializada y se expresa sólo en las fibras musculares tipo 2X que producen contracciones explosivas. North *et al*<sup>13</sup> descubrieron un polimorfismo común (C→T, rs1815739) en el exón 16 del gen *ACTN3*, que supone un remplazamiento de una arginina(R) con un codón de parada prematuro en el aminoácido 577.<sup>10</sup> El genotipo *ACTN3* 577X, está asociado con una completa deficiencia total de la  $\alpha$ -actinina-3, ocurre aproximadamente en 1.5 billones de seres humanos en todo el mundo.<sup>7</sup>

MacArthur *et al*<sup>14</sup> desarrolló un modelo de ratón *ACTN3* knockout (KO) con el fin de investigar los mecanismos que subyacen a la deficiencia de *ACTN3*. Estos autores encontraron que los ratones *ACTN3* KO tenían proporciones de fibras musculares

similares a los controles, pero la masa muscular reducida, lo que parece que se puede explicar por el diámetro reducido de la fibra de los músculos de contracción rápida observado en los ratones KO. Además de las alteraciones en el tamaño de la fibra muscular, la actividad de las enzimas aeróbicas de músculo se vio aumentada, también fue atribuido a las características del ratón *ACTN3* KO un tiempo de contracción muscular más largo y un tiempo de recuperación de la fatiga más corto.<sup>4</sup> En cuanto a estudios con humanos con cohortes de atletas de élite en resistencia han mostrado que el alelo X o el genotipo *ACTN3* 577XX está asociado con el rendimiento de resistencia en ocasiones<sup>15-17</sup> pero no siempre.<sup>18-23</sup>

#### **d. Objetivo**

Nuestro objetivo fue comparar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo *ACTN3* R577X entre un grupo de maratonianos y un grupo control (todos ellos caucásicos).

#### **e. Hipótesis**

La hipótesis fue que existirá una mayor frecuencia del genotipo *ACTN3* XX y del alelo X en el grupo de maratonianos, al menos en el de mayor nivel de rendimiento, respecto del grupo control.



## **MÉTODO**

### **a. Sujetos**

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada sujeto. El protocolo de estudio fue aprobado por el comité ético institucional (Universidad Europea de Madrid, España) y estaba de acuerdo con la Declaración de Helsinki para la investigación en Humanos de 1974 (última modificación en 2013).<sup>24</sup>

La muestra del estudio está formada por 720 corredores de maratón (661 hombres y 59 mujeres) y 285 controles (27 hombres y 67 mujeres). Tanto el grupo control como el grupo de corredores eran descendientes de caucásicos de al menos 3 generaciones. Los controles eran físicamente activos (estudiantes de educación física) pero no participaban en deportes de competición y habían hecho menos de 1(potencia) o 3(resistencia) sesiones/semana de entrenamiento estructurado durante el último año.

Los casos fueron tomados en las maratones de Zaragoza y Castellón en el momento de la recogida de dorsal, su participación fue completamente voluntaria.

### **b. Genotipado**

Se realizó un frotis de epitelio bucal de los participantes desde 2011 a 2013. En 2014 se recogieron 22 muestras en los clubes La Salle Jamón de Teruel y en el Club de Atletismo Mudéjar. El frotis consistió en un raspado mediante un isopo de algodón en el interior de la boca. Para que se conservara en condiciones óptimas se guardaba en una cámara fría (<4°C). El posterior genotipado se realizó en el Laboratorio de Genética de la Universidad Europea de Madrid (España) siguiendo la metodología que a continuación se detalla. Se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

para amplificar la secuencia que contiene la mutación. Un fragmento de 303 pb fue amplificado utilizando los siguientes primers: CTGTTGCCTGTGGTAAGTG GG directo, con etiquetado 50 CIV, y TGGTCACAGTATG CAGGAGGG inverso. Las condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos y 35 ciclos a 95°C durante 30 segundos, a 60°C durante 30 segundos, a 72°C durante 30 segundos, y una extensión final a 72°C durante 10 minutos.

Los genotipos del *ACTN3* (rs1815739) fueron establecidos por la digestión enzimática de amplicones<sup>25</sup> El cambio del R577X crea un sitio de restricción en los fragmentos de 108, 97, y 86 pb. La digestión del alelo R577 da lugar a fragmentos de 205 y 86 pb. Los productos de digestión (108 pb para el 577X y 205 pb para el R577) se detectaron por electroforesis capilar en un analizador genético ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.).

### c. Análisis estadísticos

Se utilizó la prueba  $\chi^2$  para calcular el equilibrio de Hardy-Weinberg. Este principio de equilibrio determina qué frecuencias deben observarse en la población para cada genotipo en función de las frecuencias de los alelos.<sup>26</sup> Se utilizó la regresión logística binaria, para calcular los odds ratio (OR) o la probabilidad para ser un corredor de maratón junto con su correspondiente intervalo de confianza (IC 95%). Se ha calculado tanto el modelo codominante: tomando como categoría de referencia al grupo de individuos homocigóticos para el alelo más frecuente<sup>26</sup> en este caso el R, como el modelo dominante y el recesivo.

Se realizó el análisis estadístico con el software IBM SPSS (v.20 para Windows, Chicago, IL, USA). Para determinar significatividad estadística se consideró  $P < 0.05$ .

## RESULTADOS

Hubo 24 errores de muestreo en la recolección de la muestra, la adquisición del ADN, o el proceso de genotipado: 1 en los hombres controles (0.5%), 23 en los hombres maratonianos (3.5%) y 1 en las mujeres maratonianas (1.7%).

### a. Total de la muestra:

En cuanto a la distribución de los genotipos de *ACTN3* R577X, se cumplía con el equilibrio de Hardy-Weinberg en los dos grupos de estudio: controles ( $P=0.804$ ) y maratonianos ( $P=0.347$ ), también se cumplía esta condición de equilibrio al dividir los dos grupos por sexo: hombres controles ( $P=0.647$ ), hombres maratonianos ( $P=0.323$ ), mujeres controles ( $P=0.175$ ) y mujeres maratonianas ( $P=0.984$ ).

Al realizar la regresión logística binaria no se obtuvieron resultados significativos ( $P > 0.05$ ) en el conjunto total de sujetos ( $n=696$ ,  $Tpo=3:25:50 \pm 0:33:29$ ) utilizando el sexo como covariable (*Tabla 1*).

Al separar por sexo (hombres:  $n=638$ ,  $Tpo=3:23:19 \pm 0:31:44$ ; mujeres:  $n=58$ ;  $Tpo=3:53:49 \pm 0:39:39$ ) tampoco se observa ningún resultado significativo en la regresión logística binaria (*Tabla 2* y *Tabla 3*).

### b. 20% de los mejores tiempos de cada sexo

Buscando una mayor especificidad de los análisis estadísticos, para hacer un análisis con los sujetos que estaban más extremos en el fenotipo de rendimiento de resistencia aeróbica se seleccionaron solamente al 20% de los sujetos que tenían los mejores tiempos de la muestra total y se realizó igualmente la regresión logística binaria. Se

confirmó que la muestra en conjunto cumplía el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P=0.938$ ). Cuando se separó por sexo, la muestra de los hombres cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P=0.465$ ), pero la de las mujeres no cumplía dicha condición de equilibrio ( $P=0.035$ ).

Al tomar los sujetos con el 20% de los mejores tiempos de la muestra de cada sexo ( $n=283$ ,  $Tpo=2:44:00\pm0:14:06$ ) utilizando el sexo como covariable no se obtuvieron resultados significativos (Tabla 4).

Separando por sexos, cuando fueron seleccionados el 20% de sujetos con los mejores tiempos de los hombres ( $n=115$ ;  $Tpo=2:42:23\pm0:12:04$ ), y el 20% de los mejores tiempos de las mujeres ( $n=11$ ;  $Tpo=3:01:26\pm0:21:27$ ), sigue sin observarse ningún resultado significativo (Tablas 5 y 6).

### **c. 10% de los mejores tiempos de cada sexo.**

Buscando todavía una mayor especificidad en los análisis estadísticos del apartado anterior, para hacer un análisis con los sujetos que estaban aún más extremos en el fenotipo de rendimiento de resistencia aeróbica se seleccionaron solamente al 10% de los sujetos que tenían los mejores tiempos de la muestra total y se realizó igualmente la regresión logística binaria. En este caso, la muestra también cumplía el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P=0.269$ ). Cuando esta muestra, se dividía por sexo, también se cumplía el equilibrio de Hardy-Weinberg (hombres:  $P=0.126$ , mujeres:  $P=0.136$ ).

Cuando el 10% de los sujetos de cada sexo con mejores tiempos ( $n=63$ : 58 hombres  $Tpo=2:33:20\pm0:10:44$  y 5 mujeres  $Tpo=2:41:55\pm0:09:33$ ) fue tomado como muestra y se utilizó el sexo como covariable, tampoco se observó ningún resultado significativo, salvo en modelo recesivo ( $P=0.041$ ) (Tabla 7).

Sin embargo, cuando la muestra es el 10% de los mejores tiempos de los hombres ( $n=58$ ;  $Tpo=2:33:20\pm0:10:44$ ) el resultado es significativo en el modelo codominante (RR vs XX:  $P=0.048$  y XX vs RX:  $P=0.039$ ) y en el recesivo ( $P=0.021$ ), así como en los alelos R vs X ( $P=0.044$ ) (Tabla 8). Lo que no ocurre en el caso del 10% de los mejores tiempos de las mujeres ( $n=5$ ;  $Tpo=2:41:55\pm0:09:33$ ) (Tabla 9).

## DISCUSIÓN

Este estudio indica que la probabilidad para un hombre de ser un corredor de maratón por debajo de  $<2:33:20\pm0:10:44$  es mayor cuando se presenta el genotipo *ACTN3* 577XX, ya que se obtuvieron resultados significativos tanto para el modelo codominante (RR vs XX: OR=2.171, IC95%=0.284-0.976,  $P=0.048$ ; XX vs RX: OR=0.480, IC95%=0.239-0.964,  $P=0.039$ ) como para el recesivo (OR=0.472, IC95%=0.250-0.892,  $P=0.021$ ). El mismo hallazgo se encontró en relación con los alelos, siendo mayor la probabilidad de ser corredor de maratón si se posee el alelo X, (OR=1.528, IC95%=1.012-2.307,  $P=0.044$ ). Sin embargo, esta asociación significativa no se encontró en el caso de las mujeres. Esta ausencia de diferencias significativas en el caso de las mujeres puede estar explicada por la reducida muestra tanto para el caso del 20% como para el 10% de los mejores tiempos en las mujeres ( $n=11$  y  $n=5$ , respectivamente).

Esta reducida  $n$  en las mujeres seguramente sea también la causa por la que en el modelo recesivo de la muestra que incluye al 10% de los mejores tiempos de cada sexo tomando el sexo como covariable, obtengamos un resultado significativo ( $P=0.041$ ) ya que en el 10% de los hombres ( $n=58$ ) ya había aparecido un resultado significativo ( $P=0.021$ ) y añadir a las mujeres ( $n=5$ ) a la muestra supone un cambio muy pequeño (7.93% de  $n$ ).

La asociación encontrada entre el *ACTN3* 577XX y el rendimiento en maratón es esperable puesto que en ratones con este genotipo se ha observado que: (1)La conversión de piruvato a lactato se reduce por reducción de la lactato deshidrogenasa, (2)la actividad de enzimas del metabolismo oxidativo y de la oxidación de ácidos grasos aumenta y (3)el contenido de glucógeno aumenta debido a la reducción de la actividad de la glucógeno fosforilasa (Figura 1) estas características pueden proporcionar una posible explicación a la reducida capacidad de espín y la mejora del rendimiento en resistencia en humanos con el mismo genotipo.<sup>27</sup> También es esperable ya la maratón está en el extremo del rendimiento humano en el que las características del fenotipo correspondiente al *ACTN3* 577XX son factores del rendimiento.<sup>28</sup>

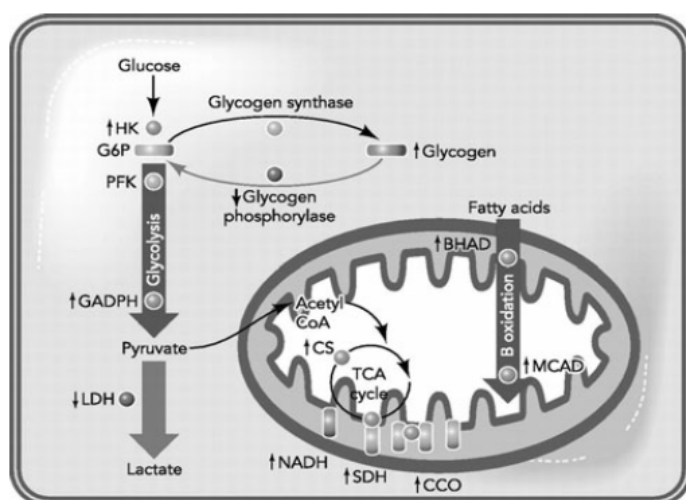


Figura 1: vías metabólicas del ratón *ACTN3* KO

BHAD: 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa; CS: citrato sintetasa; COO: citocroma c oxidasa; CoA: coenzima A; G6P: glucosa 6 fosfato; GAPDH: gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa; LDH Lactato deshidrogenasa; MCAD: acil-CoA deshidrogenasa de media cadena; NADH: nicotinamida adenina dinucleotida; PFK: fosfofrutokinasa; SDH: succinato deshidrogenasa; TCA: ciclo tricarboxílico; ↑aumento; ↓reducción

Esta asociación está de acuerdo con resultados positivos anteriores en otras cohortes de atletas de resistencia: como los de Eynon *et al*<sup>29</sup> (276 atletas de resistencia y 355 de potencia caucásicos de tres nacionalidades: Españoles, polacos y rusos); Yang *et al*<sup>15</sup>, Eynon *et al*<sup>16</sup>, Niemi *et al*<sup>17</sup>, Papadimitriou *et al*.<sup>30</sup> Por el contrario, aunque como ya dijimos en la introducción los resultados para estudios de caso-control en deportistas de resistencia son contradictorios. Hay estudios en los que no encuentran la mencionada asociación, como son los publicados por: Doring *et al*<sup>18</sup> (316 atletas de resistencia

caucásicos de tres nacionalidades: USA, Finlandia y Alemania), Saunders *et al*<sup>20</sup> (457 Ironman caucásicos), Yang *et al*<sup>22</sup> (Atletas africanos de alto nivel: 76 etíopes, 284 keniatas y 62 nigerianos), Lucia *et al*.<sup>25</sup> Incluso hay estudios en los que se llega a publicar que existe asociación entre el alelo X y deportes de potencia<sup>31</sup> (193 atletas lituanos) o entre el genotipo RR y resultados en deportes de resistencia<sup>32</sup> (456 remeros rusos de resistencia).

Esta falta de consistencia en resultados publicados hasta la actualidad subraya que el estudio de las asociaciones existentes entre el *ACTN3* y fenotipos de resistencia no ha hecho más que comenzar, y que tal y como ya comentamos en la introducción, el rendimiento de un atleta no está condicionado solamente por los factores genéticos.<sup>5</sup>

En cuanto a las limitaciones del presente trabajo cabe citar que solamente se estudia un único gen por lo que supone una parte muy pequeña de la asociación de una determinada genética con el rendimiento en maratón. Puede que el *ACTN3* simplemente tenga una importancia secundaria en el rendimiento de resistencia.<sup>4</sup> Sin duda en un futuro los estudios de asociación del genoma completo serán clave para conocer las interacciones entre genes y descubrir otros genes que hasta la fecha ni siquiera conocemos.

Además los resultados derivados de este estudio deben ser entendidos con precaución, ya que el número de casos de la muestra fue muy bajo cuando solamente se seleccionaron el 10% de los sujetos con mejores tiempos (hombres; n=58). Se ha estimado que el análisis de un solo polimorfismo requiere unos 250 casos para tener un poder estadístico del 80%.<sup>33</sup>

Otras de las limitaciones que podemos señalar para este estudio es que solamente ha sido realizado con sujetos únicamente caucásicos y que sería mucho más

completo si se realizara con varias etnias. Por otra parte, sería interesante tener referencias tanto de factores epigenéticos que influyen en el rendimiento como por ejemplo el número de horas de entrenamiento, como de factores ambientales que pueden ser clave en la expresión de los genes durante periodos críticos del desarrollo prenatal y postnatal<sup>34</sup> como pueden ser los entrenamientos durante la infancia.<sup>8</sup>

Por último cabe decir, que pese a la dificultad que entraña, lo ideal sería disponer de una amplia muestra de maratonianos con nivel internacional u olímpico ya que sería la muestra ideal del fenotipo de resistencia en maratón.

Sin embargo, nuestros resultados no deberían pasarse por alto ya que contamos con una amplia muestra ( $n=1004$ ) compuesta por 284 controles y un grupo amplio de maratonianos ( $n=720$ ) que cumple el equilibrio de Hardy Weinberg (Hombres controles ( $P=0.647$ ), hombres maratonianos ( $P=0.323$ ), mujeres controles ( $P=0.175$ ) y mujeres maratonianas ( $P=0.984$ ).

Y lo que es todavía más interesante, en el subgrupo (10% de mejores tiempos de los hombres) que hemos tomado, que se encuentra en el extremo del rendimiento en resistencia ( $<2:33:20 \pm 0:10:44$ ), contamos con una muestra de 58 sujetos en la que también se cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P=0.126$ ).

En resumen, sería muy interesante poder repetir el análisis: teniendo en cuenta varios genes, disponiendo de una muestra mayor, diferentes etnias y con sujetos de élite mundial para así obtener unos resultados mucho más contundentes.



## CONCLUSIONES

Existe una asociación positiva en hombres entre el polimorfismo *ACTN3* R577X y el rendimiento en la maratón. La posibilidad de ser maratoniano con buena marca personal por debajo de 2:33:20±0:10:44 es 2.17 veces mayor si se tiene el genotipo XX respecto del RR. Igualmente existe 1.52 veces más de posibilidad de llegar a ser corredor maratoniano si al menos está presente una copia del alelo X. Esta asociación no fue corroborada en mujeres.

En investigaciones futuras se debería de ampliar el número de sujetos e incluir maratonianos de nivel mundial así como de otras etnias.

## CONCLUSIONS

Il existe une association positive dans les hommes entre *ACTN3* R577X polymorphisme et la performance dans le marathon. La possibilité d'être un marathonien avec un bon record personnel en dessous de 02:33:20±00:10:44 est de 2,17 fois plus élevé si on a le génotype XX par rapport au RR. Il y a également 1,52 fois plus de chances de devenir marathonien si au moins une copie de l'allèle X est présente. Cette association n'a pas été confirmée chez les femmes.

Les recherches futures devraient augmenter le nombre de sujets et inclure les marathonniens de classe mondiale et d'autres ethnies.

## TABLAS

Tabla 1: Regresión logística binaria con covariable sexo para el total de la muestra.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	283	100	638	100				
	Codominante	RR	90	32	205	29	1		
		RX	141	50	334	48	1.070	0.774 1.479	0.681
		XX	52	18	157	23	1.309	0.871 1.967	0.196
	Dominante	XX	52	27	157	32	1		
		RX	141	73	334	68	0.818	0.560 1.194	0.297
		RR	90	32	205	29	1		
	Recesivo	RX-XX	193	68	491	71	1.279	0.837 1.541	0.414
		RR-RX	231	82	539	77	0.797	0.558 1.138	0.211
		XX	52	18	157	23	1		
ALELOS	Total	566	100	1392	100				
	R	321	57	744	53	1			
	X	245	43	648	47	1.138	0.930 1.391	0.209	

Tabla 2: Regresión logística binaria para la muestra total de hombres.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	216	100	638	100				
	Codominante	RR	70	32	189	30	1		
		RX	103	48	305	48	1.097	0.770 1.562	0.609
		XX	43	20	144	22	1.240	0.801 1.921	0.334
		XX	43	29	144	32	1		
		RX	103	71	305	68	0.884	0.588 1.329	0.554
	Dominante	RR	70	32	189	30	1		
		RX-XX	146	68	449	70	1.139	0.817 1.587	0.442
	Recesivo	RR-RX	173	80	494	77	0.853	0.582 1.249	0.414
		XX	43	20	144	23	1		
ALELOS	Total	67	100	58	100				
		R	243	56	683	54	1		
		X	189	44	593	46	1.116	0.896 1.390	0.326

Tabla 3: Regresión logística binaria para la muestra total mujeres.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	67	100	58	100				
	Codominante	RR	20	30	16	28	1		
		RX	38	57	29	50	0.800	0.422 2.157	0.910
		XX	9	13	13	22	1.806	0.167 5.287	0.281
		XX	9	19	13	31	1		
	Dominante	RX	38	81	29	69	0.528	0.199 1.404	0.201
		RR	20	30	16	28	1		
		RX-XX	47	70	42	72	1.117	0.513 2.432	0.780
	Recesivo	RR-RX	58	87	45	78	0.537	0.211 1.368	0.193
		XX	9	13	13	22	1		
ALELOS	Total	134	100	116	100				
		R	78	58	61	53	1		
		X	56	42	55	47	1.256	0.761 2.072	0.372

Tabla 4: Regresión logística binaria con covariable sexo para el 20% mejores tiempos de cada sexo.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	283	100	127	100				
	Codominante	RR	90	32	34	27	1		
		RX	141	50	63	50	1.264	0.765 2.088	0.361
		XX	52	18	30	23	1.473	0.804 2.699	0.210
		XX	52	27	30	32	1		
	Dominante	RX	141	73	63	68	0.858	0.496 1.484	0.583
		RR	90	32	34	27	1		
		RX-XX	193	68	93	73	1.324	0.825 2.125	0.244
	Recesivo	RR-RX	231	82	97	76	0.785	0.469 1.314	0.357
		XX	52	18	30	24	1		
ALELOS	Total	566		254					
	R	321	57	131	52	1			
	X	245	43	123	48	1.220	0.902 1.650	0.196	

Tabla 5: Regresión logística binaria para el 20% mejores tiempos de los hombres.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	216	100	116	100,00				
	Codominante	RR	70	32	33	28	1		
		RX	103	48	54	47	1.112	0.655 1.887	0.694
		XX	43	20	29	25	1.431	0.764 2.678	0.263
		XX	43	29	29	35	1		
		RX	103	71	54	65	1.381	0.777 0.438	0.390
	Dominante	RR	70	32	33	28	1		
		RX-XX	146	68	83	72	1.206	0.736 1.976	0.457
	Recesivo	RR-RX	173	80	87	75	0.746	0.436 1.275	0.284
		XX	43	20	29	25	1		
	ALELOS	Total	432	100	232	100			
		R	243	56	120	52	1		
		X	189	44	112	48	1.200	0.871 1.653	0.264

Tabla 6: Regresión logística binaria para el 20% mejores tiempos de las mujeres.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	67	100	11	100				
	Codominante	RR	20	30	1	9	1		
		RX	38	57	9	82	4.737	0.560	40.090
		XX	9	13	1	9	2.222	0.125	39.638
		XX	9	19	1	10	1		
		RX	38	81	9	90	2.132	0.239	19.047
	Dominante	RR	20	30	1	9	1		
		RX-XX	47	70	10	91	4.255	0.510	35.494
		RR-RX	58	87	10	91	1.552	0.177	13.621
	Recesivo	XX	9	13	1	9	1		
ALELOS	Total	134	100	22	100				
	R	78	58	11	50	1			
	X	56	42	11	50	1.393	0.564	3.438	0.472

Tabla 7: Regresión logística binaria con covariable sexo para el 10% mejores tiempos de cada sexo.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	283	100	63	100				
	Codominante	RR	90	32	16	25	1		
		RX	141	50	27	43	1.133	0.574 2.234	0.720
		XX	52	18	20	32	2.050	0.971 4.331	0.060
		XX	52	27	20	43	1		
	Dominante	RX	141	73	27	57	0.552	0.283 1.078	0.082
		RR	90	32	16	25	1		
		RX-XX	193	68	47	75	1.399	0.748 2.616	0.294
	Recesivo	RR-RX	231	82	43	68	0.526	0.284 0.976	0.041
		XX	52	18	20	32	1		
ALELOS	Total	566	100	126	100				
	R	321	57	59	47	1			
	X	245	43	67	53	1.460	0.987 2.160	0.058	



Tabla 8: Regresión logística binaria para el 10% mejores tiempos de los hombres.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P	
		N	%	N	%					
GENOTIPOS	Total	216	100	58	100					
	Codominante	RR	70	32	15	26	1			
		RX	103	48	23	40	1.042	0.058	2.136	0.901
		XX	43	20	20	34	2.171	1.005	4.686	0.048
		XX	43	29	20	47	1			
	Dominante	RX	103	71	23	53	0.480	0.239	0.964	0.039
		RR	70	32	15	26	1			
		RX-XX	146	68	43	74	1.374	0.715	2.641	0.340
	Recesivo	RR-RX	173	80	38	66	0.472	0.250	0.892	0.021
		XX	43	20	20	34	1			
	ALELOS	Total	432	100	116	100				
R		243	56	53	46	1				
X		189	44	63	54	1.528	1.012	2.307	0.044	

Tabla 9: Regresión logística binaria para el 10% mejores tiempos de las mujeres.

MODELO	GENOTIPO	CONTROLES		CASOS		OR	IC (95%)		Nivel P
		N	%	N	%				
GENOTIPOS	Total	67	100	5	100				
	Codominante	RR	20	30	1	20	1		
		RX	38	57	4	80	2.105	0.220 20.119	0.518
		XX	9	13	0	0	0	0	0.999
		XX	9	19	0	0	1		
		RX	38	81	4	100	170049909.7	0 0	0.999
	Dominante	RR	20	30	1	20	1		
		RX-XX	47	70	4	80	1.702	0.179 16.196	0.644
	Recesivo	RR-RX	58	87	5	100	139265075.1	0 0	0.999
		XX	9	13	0	0	1		
	ALELOS	Total	134	100	10	100			
		R	78	58	6	60	1		
		X	56	42	4	40	0.929	0.250 3.445	0.912

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría agradecer la colaboración de todos los corredores de las maratones de Zaragoza y Castellón que participaron de forma voluntaria en el estudio. Así como de los corredores de los Clubes La Salle Jamón de Teruel y El Club de Atletismo Mudejar que permitieron que les tomara muestras.

También quiero agradecer al Laboratorio de genética de la Universidad Europea de Madrid la realización del genotipado.

Por último, quería dar las gracias en especial a mi directora en este trabajo de fin de grado: la Dra. Nuria Garatachea Vallejo por su continua supervisión y apoyo a lo largo del proceso de realización.

## BIBLIOGRAFÍA

1. De Moor MH, Spector TD, Cherkas LF, Falchi M, Hottenga JJ, Boomsma DI, et al. Genome-wide linkage scan for athlete status in 700 British female DZ twin pairs. *Twin Research and Human Genetics: The Official Journal of the International Society for Twin Studies*. 2007;10(6):812-20.
2. Bouchard C, An P, Rice T, Skinner JS, Wilmore JH, Gagnon J, et al. Familial aggregation of VO(2max) response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study. *Journal of Applied Physiology*. 1999;87(3):1003-8.
3. Peeters MW, Thomis MA, Beunen GP, Malina RM. Genetics and sports: an overview of the pre-molecular biology era. *Medicine and Sport Science*. 2009;54:28-42.
4. Pitsiladis Y, Wang G, Wolfarth B, Scott R, Fuku N, Mikami E, et al. Genomics of elite sporting performance: what little we know and necessary advances. *British Journal of Sports Medicine*. 2013;47(9):550-5.
5. Tucker R, Collins M. What makes champions? A review of the relative contribution of genes and training to sporting success. *British Journal of Sports Medicine*. 2012;46(8):555-61.
6. Bray MS, Hagberg JM, Pérusse L, Rankinen T, Roth SM, Wolfarth B, et al. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2009;41(1):35-73.
7. Eynon N, Hanson ED, Lucia A, Houweling PJ, Garton F, North KN, et al. Genes for elite power and sprint performance: ACTN3 leads the way. *Sports Medicine*. 2013;43(9):803-17.
8. Eynon N, Ruiz JR, Oliveira J, Duarte JA, Birk R, Lucia A. Genes and elite athletes: a roadmap for future research. *The Journal of Physiology*. 2011;589(Pt 13):3063-70.

9. Legaz Arrese A, Munguia Izquierdo D, Serveto Galindo JR. Physiological measures associated with marathon running performance in high-level male and female homogeneous groups. *International Journal of Sports Medicine*. 2006;27(4):289-95.
10. Ma F, Yang Y, Li X, Zhou F, Gao C, Li M, et al. The association of sport performance with ACE and ACTN3 genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2013;8(1):e54685.
11. Alfred T, Ben-Shlomo Y, Cooper R, Hardy R, Cooper C, Deary IJ, et al. ACTN3 genotype, athletic status, and life course physical capability: meta-analysis of the published literature and findings from nine studies. *Human Mutation*. 2011;32(9):1008-18.
12. Moran CN, Yang N, Bailey ME, Tsiokanos A, Jamurtas A, MacArthur DG, et al. Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *European Journal of Human Genetics*. 2007;15(1):88-93.
13. North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Eastal S, Beggs AH. A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nature Genetics*. 1999;21(4):353-4.
14. MacArthur DG, Seto JT, Raftery JM, Quinlan KG, Huttley GA, Hook JW, et al. Loss of ACTN3 gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans. *Nature Genetics*. 2007;39(10):1261-5.
15. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastal S, et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *American Journal of Human Genetics*. 2003;73(3):627-31.

16. Eynon N, Duarte JA, Oliveira J, Sagiv M, Yamin C, Meckel Y, et al. ACTN3 R577X polymorphism and Israeli top-level athletes. *International Journal of Sports Medicine*. 2009;30(9):695-8.
17. Niemi AK, Majamaa K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *European Journal of Human Genetics*. 2005;13(8):965-9.
18. Doring FE, Onur S, Geisen U, Boulay MR, Perusse L, Rankinen T, et al. ACTN3 R577X and other polymorphisms are not associated with elite endurance athlete status in the Genathlete study. *Journal of Sports Sciences*. 2010;28(12):1355-9.
19. Muniesa CA, Gonzalez-Freire M, Santiago C, Lao JJ, Buxens A, Rubio JC, et al. World-class performance in lightweight rowing: is it genetically influenced? A comparison with cyclists, runners and non-athletes. *British Journal of Sports Medicine*. 2010;44(12):898-901.
20. Saunders CJ, September AV, Xenophontos SL, Cariolou MA, Anastassiades LC, Noakes TD, et al. No association of the ACTN3 gene R577X polymorphism with endurance performance in Ironman Triathlons. *Annals of Human Genetics*. 2007;71(Pt 6):777-81.
21. Scott RA, Irving R, Irwin L, Morrison E, Charlton V, Austin K, et al. ACTN3 and ACE genotypes in elite Jamaican and US sprinters. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2010;42(1):107-12.
22. Yang N, MacArthur DG, Wolde B, Onywera VO, Boit MK, Lau SY, et al. The ACTN3 R577X polymorphism in East and West African athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2007;39(11):1985-8.

23. Ruiz JR, Fernandez del Valle M, Verde Z, Diez-Vega I, Santiago C, Yvert T, et al. ACTN3 R577X polymorphism does not influence explosive leg muscle power in elite volleyball players. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2011;21(6):e34-41.
24. World Medical A. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *The Journal of the American Medical Association*. 2013;310(20):2191-4.
25. Lucia AG-G, F.; Santiago, C.; Bandrés, F.; Earnest, C.; Rabadán, M.; Alonso, J. M.; Hoyos, J.; Córdoba, A.; Villa, G.; Foster, C. ACTN3 Genotype in Professional Endurance Cyclist. *International Journal of Sports Medicine*. 2006; 26(06):442-447.
26. Iniesta R, Guino E, Moreno V. [Statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies]. *Gaceta sanitaria / SESPAS*. 2005;19(4):333-41.
27. Berman Y, North KN. A gene for speed: the emerging role of alpha-actinin-3 in muscle metabolism. *Physiology*. 2010;25(4):250-9.
28. Loftin M, Sothorn M, Koss C, Tuuri G, VanVrancken C, Kontos A, & Bonis M. Energy expenditure and influence of physiologic factors during marathon running. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2007;21(4):1188-1191.
29. Eynon N, Ruiz JR, Femia P, Pushkarev VP, Cieszczyk P, Maciejewska-Karlowska A, et al. The ACTN3 R577X polymorphism across three groups of elite male European athletes. *PloS one*. 2012;7(8):e43132.
30. Papadimitriou ID, Papadopoulos C, Kouvatsi A, Triantaphyllidis C. The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. *International Journal of Sports Medicine*. 2008;29(4):352-5.

31. Valentina Ginevičienė AP, Kazys Milašius, Audronė Jakaitienė, Vaidutis Kučinskas. Genetic Variation of the Human ACE and ACTN3 Genes and Their Association With Functional Muscle Properties in Lithuanian Elite Athletes. *Medicina (Kaunas)*. 2011;47(5):284-290.
32. Ahmetov, II, Druzhevskaya AM, Astratenkova IV, Popov DV, Vinogradova OL, Rogozkin VA. The ACTN3 R577X polymorphism in Russian endurance athletes. *British Journal of Sports Medicine*. 2010;44(9):649-52.
33. Hong EP, Park JW. Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. *Genomics & Informatics*. 2012;10(2):117-22.
34. Waterland RA, Michels KB. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. *Annual Review of Nutrition*. 2007;27:363-88.